

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO  
*CAMPUS BAIXADA SANTISTA*

LETICIA ANDRADE CERRONE

**SUPLEMENTAÇÃO AGUDA DE CHOCOLATE  
RICO EM CACAU: ANÁLISE DOS  
BIOMARCADORES METABÓLICOS E  
VENTILATÓRIOS ANTES E APÓS EXERCÍCIO  
FÍSICO AGUDO EM HOMENS PRÉ-HIPERTENSOS**

Santos

2014

LETICIA ANDRADE CERRONE

**SUPLEMENTAÇÃO AGUDA DE CHOCOLATE  
RICO EM CACAU: ANÁLISE DOS  
BIOMARCADORES METABÓLICOS E  
VENTILATÓRIOS ANTES E APÓS EXERCÍCIO  
FÍSICO AGUDO EM HOMENS PRÉ-HIPERTENSOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de São Paulo como parte dos requisitos curriculares para obtenção do título de Bacharel em Educação Física Modalidade Saúde.

**Orientador:** Prof. Dr. Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos

Santos  
2014

## **Dedicatória**

Dedico esse Trabalho de Conclusão de Curso à minha família: Angelo Cerrone, Roseli do Carmo de Andrade Cerrone e Leonardo de Andrade Cerrone, familiares, namorado Gustavo Souza Mendonça de Araujo, todo grupo do GEO e ao meu orientador.

## **Agradecimentos**

À Deus que me deu forças para chegar até aqui, me acompanhou em todos os momentos da minha vida; Agradeço à minha família, pela ajuda nos momentos de dificuldades. Confesso que estamos longe de sermos perfeitos, mas sempre me apoiaram quando o mundo parecia desabar. Vocês são meu eterno apoio, amo vocês. Aos familiares, Andrades e Cerrones tão presentes em todos os momentos da minha vida. Especificadamente, minha Nona, Madrinhas, Tias maravilhosas, Tio inspirador e conselheiro, todos os meus primos e primas e também a toda família Souza, Mendonça e Araujo Ao meu orientador, um doutor maravilhoso e companheiro. Jamais me abandonou em todo o trajeto, me motivou, ensinou e me provou que mesmo com as dificuldades eu seria capaz. Muito obrigada por tudo, levarei para sempre seus conselhos e ensinamentos. À todas as pessoas que me ajudaram, ensinaram e me acompanharam nesse estudo; À todos os meus voluntários tão dedicados a doar um pedaço do seu tempo para a produção da ciência; À todos os grupos de estudos, monitorias, extensões e universidades que me envolvi durante a graduação; À todos meus amigos/as companheiros, obrigada pelos conselhos, ensinamentos e risadas; Por fim, mas não menos importante, agradeço ao meu namorado Gustavo Souza Mendonça de Araujo por estar ao meu lado sempre que preciso.

"Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades,  
lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram  
conquistadas do que parecia impossível."

Charles Chaplin

## RESUMO

A HAS aumenta o risco de danos cardiovasculares tanto nos brasileiros quanto em toda população mundial. Contudo há muitos pesquisadores interessados nessa patologia e no estudo científico dela. Diferentemente, esse estudo se propôs a estudar a classe de pré-hipertensos para evitar o desenvolvimento da patologia. O exercício físico é consagrado, no meio científico, como mecanismo não farmacológico para prevenção primária e secundária de doenças crônicas tais como: hipertensão arterial sistêmica, aterosclerose, disfunção endotelial, diabetes mellitus tipo II, obesidade, síndrome metabólica, câncer, depressão, osteoporose e osteoartrite. O cacau consiste no alimento que possui a maior concentração de flavonoides, entre esses as catequinas, epicatequinas e a teobromina. Os flavonoides são um grupo de polifenóis que possuem ação antioxidante e antitrombótica, e essa capacidade é maior que a encontrada em chás e vinhos. Por conseguinte o chocolate preto amargo possui cerca de três vezes mais flavonoides quando comparados ao chocolate branco e ao chocolate ao leite. Dessa forma o problema do nosso estudo é: Em que medida a suplementação de 100g de chocolate preto 85% cacau, e seu conteúdo em flavonoides, exerce influências em biomarcadores metabólicos e ventilatórios de indivíduos pré-hipertensos quando aliados ao exercício físico agudo? E o objetivo geral se caracterizou por avaliar o efeito de duas sessões agudas de exercício físico incremental em biomarcadores metabólicos e ventilatórios em pré-hipertensos. O estudo foi desenvolvido com oito indivíduos do sexo masculino, de 20 a 40 anos e pré-hipertensos sendo que todos assinaram o TCLE. Os voluntários compareceram três vezes ao laboratório, na primeira vez realizaram testes de composição corporal, avaliação da capacidade aeróbia e eletrocardiograma de repouso. Nos dias subsequentes foram realizadas as coletas de sangue antes e após o protocolo de exercício físico incremental em esteira com e sem chocolate 85% Cacau, e análise dos parâmetros ventilatórios: Consumo de Oxigênio Pico e submáximo, Razão de Troca Respiratória, Ventilação, Razão Ventilação/Consumo de Oxigênio e Razão Ventilação/Volume de Gás Carbônico. As dosagens foram realizadas a partir do soro/plasma armazenado para os biomarcadores Creatina Quinase (CK), Lactato Desidrogenase (LDH), Glicose, Colesterol, Lipoproteína de baixa densidade (LDL), Lipoproteína de alta densidade (HDL) e Triacilglicerol (TAG). O protocolo de exercício incremental vinculado à suplementação de chocolate rico em cacau aumentou os biomarcadores de lesão muscular CK e LDH em pré-hipertensos. Mas apresentou melhora expressiva nos valores de HDL, melhorando o perfil lipídico para desenvolvimento de aterosclerose nessa população. Apesar da verificação de alterações significativas nos biomarcadores metabólicos essas não foram eficientes para exercer mudanças nos parâmetros ventilatórios.

**Palavras-chave:** Exercício Agudo, Suplementação, Chocolate, Flavonoides, Moléculas de adesão celular e Hipertensão.

## ABSTRACT

Hypertension increases the risk of cardiovascular damage in Brazilians and across the world's population. However, many researchers interested in this pathology and development many scientific study of it. Differently, this study proposes a research with the class of prehypertension subjects to prevent from hypertension's development. It is known that a healthy lifestyle has direct influence in preventing hypertension and bad habits should be avoided since they can trigger the disease, habits such as alcoholism, smoking, sedentary lifestyle and excess sodium in the diet. The cocoa is the food that has the highest concentration of flavonoids, catechins, epicatechins and theobromine. Flavonoids are a group of polyphenols that have antioxidant and antithrombotic action, and their amount in chocolates are greater than that found in teas and wines. Therefore the dark chocolate has about three times more flavonoids when compared to white chocolate and milk chocolate. Thus, the problem of our study is: up to what extent does the supplementation of a 100g of dark chocolate, and its content in flavonoids, exerts influences on ventilatory and metabolic biomarkers in prehypertensive individuals when allied to an acute exercise? And the general goal of this study was evaluating the effect of two acute sessions of incremental exercise on ventilatory and metabolic biomarkers in prehypertensive. The study was conducted with eight male subjects, 20-40 years old and prehypertensive status all of whom signed the consent form. Volunteers were subjected to three different situations. On the first time, was performed body composition test, aerobic capacity assessment and a resting electrocardiogram. On the second and third times, blood samples were taken before and after the incremental exercise protocol on a treadmill with and without chocolate 85% cocoa. In both protocols it was used a mask to analyze the following ventilator parameters: Peak Oxygen Consumption and submaximal Respiratory exchange ratio, ventilation, Ventilation / reason / reason and Oxygen Consumption Ventilation / Volume of Carbon Dioxide. The measurements were made from the stored blood plasma/ serum and the analyzed biomarkers were: creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), glucose, cholesterol, low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL) and triacylglycerol (TAG). The incremental exercise protocol with supplementation of 85% cocoa chocolate showed a significant increase in biomarkers of muscle injury CK and LDH. However, it showed significant improvement in HDL levels, improving lipid profile to avoid the development of atherosclerosis. Even though there were significant changes in those metabolic biomarkers it was not observed any significant changes on the ventilator parameters.

**Keywords:** Acute exercise, supplementation, Chocolate, Flavonoids, Cell Adhesion Molecules and Hypertension.

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES E TABELAS

## Figuras

Figura 1: Formação da Aterosclerose .....	11
Figura 2: Consumo de Oxigênio ( $VO_2$ ) .....	21
Figura 3: Razão de Troca Respiratória (R) .....	21
Figura 4: Ventilação (VE).....	22
Figura 5: Razão Ventilação/ Consumo de Oxigênio (VE/ $VO_2$ ).....	22
Figura 6: Razão Ventilação/ Volume de Gás Carbônico (VE/ $VCO_2$ ).....	23
Figura 7: Concentração de flavonoides no cacau.....	27

## Tabelas

Tabela 1: Classificação da HAS para pessoas acima de 18 anos.....	9
Tabela 2: Características da Amostra.....	19
Tabela 3- Análises Sanguíneas .....	20



# SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO .....	9
1.1- Hipertensão arterial sistêmica .....	9
1.2- Aterosclerose.....	12
1.4- Chocolate .....	14
2- MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
2.1 Amostra .....	16
2.2- Procedimentos.....	17
2.3- Coleta de sangue .....	18
2.4- Análise estatística.....	18
3- RESULTADOS .....	19
4- DISCUSSÃO .....	24
5- CONCLUSÃO .....	29
6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	30
ANEXOS .....	34
APÊNDICE .....	38

# 1- INTRODUÇÃO

No mundo atual, existem grandes valores públicos, cerca de 165 milhões de reais, investidos somente com as patologias decorrentes da hipertensão arterial sistêmica (BRANDÃO *et al.*, 2010). E mesmo com grande investimento público, há relatos de mais de 300 mil mortes decorrentes da hipertensão, mantendo a patologia como primeira causa de óbito no Brasil e no Mundo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009)

## 1.1- Hipertensão arterial sistêmica

A Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) aumenta o risco de danos cardiovasculares tanto nos brasileiros quanto em toda população mundial. No Brasil ela atinge de 22 a 44% da população, dependendo da região, com média de 32% e na América do norte cerca de 30% (WOLF-MAIER *et al.*, 2003; SPOSITO *et al.*, 2007; BRANDÃO *et al.*, 2010). No entanto, a HAS pode ser caracterizada como uma doença crônica de origem multifatorial, com consequente aumento sustentado da pressão arterial acima dos limites de normalidade ( $\geq 140/90$ mmHg), e é comumente associada a distúrbios metabólicos, hormonais, hipertrofia cardíaca e vascular.

A HAS pode ser classificada em dois tipos: Primária ou Secundária. A primária possui presença de múltiplos fatores e importante componente genético, atingindo cerca de 90% dos casos de H.A.S. A secundária se caracteriza pelo aumento da pressão arterial por doenças previamente conhecidas ou pelo uso de medicamentos com conhecida ação hipertensiva (BRANDÃO *et al.*, 2010). A tabela 1 nos traz a classificação (ótima, normal, limítrofe, hipertensão estágio I, hipertensão estágio II) que serve de referência numérica da pressão sistólica e diastólica em cada estágio, devendo sempre considerar a maior pressão, caso essas estejam em estágios diferentes.

**Tabela 1: Classificação da HAS para pessoas acima de 18 anos**

Classificação	Pressão Sistólica (mmHg)	Pressão diastólica (mmHg)
Ótima	<120	<80
Normal	<130	<85
Limítrofe (normal-alta ou pré-hipertensão)	130-139	85-89
Hipertensão estágio I	140-159	90-99
Hipertensão estágio II	160-179	100-109

Tabela adaptada da VI diretrizes de hipertensão, 2010. Quando os níveis da pressão encontram-se em estágios diferentes deve-se levar em conta a maior.

O estilo de vida influencia diretamente no desenvolvimento de HAS. Considerando a influência desse estilo de vida devem-se evitar hábitos desencadeadores da doença tais como alcoolismo, tabagismo, sedentarismo e excesso de sódio na alimentação (RONDON e BRUM, 2003).

A HAS pode também estar relacionada a alterações nas funções dos órgãos-alvo que o sangue com elevada pressão irá irrigar, tais como coração, encéfalo, rins e vasos sanguíneos, e também as alterações no metabolismo dos mesmos, aumentando assim os riscos de eventos cardiovasculares (BRANDÃO *et al.*, 2010). No entanto, atualmente ainda se estuda as influências que esse aumento sustentado da pressão arterial exerce no endotélio (GOLBIDI e LAHER, 2013; HLUBOCKA *et al.*, 2002; MELO *et al.*, 2007).

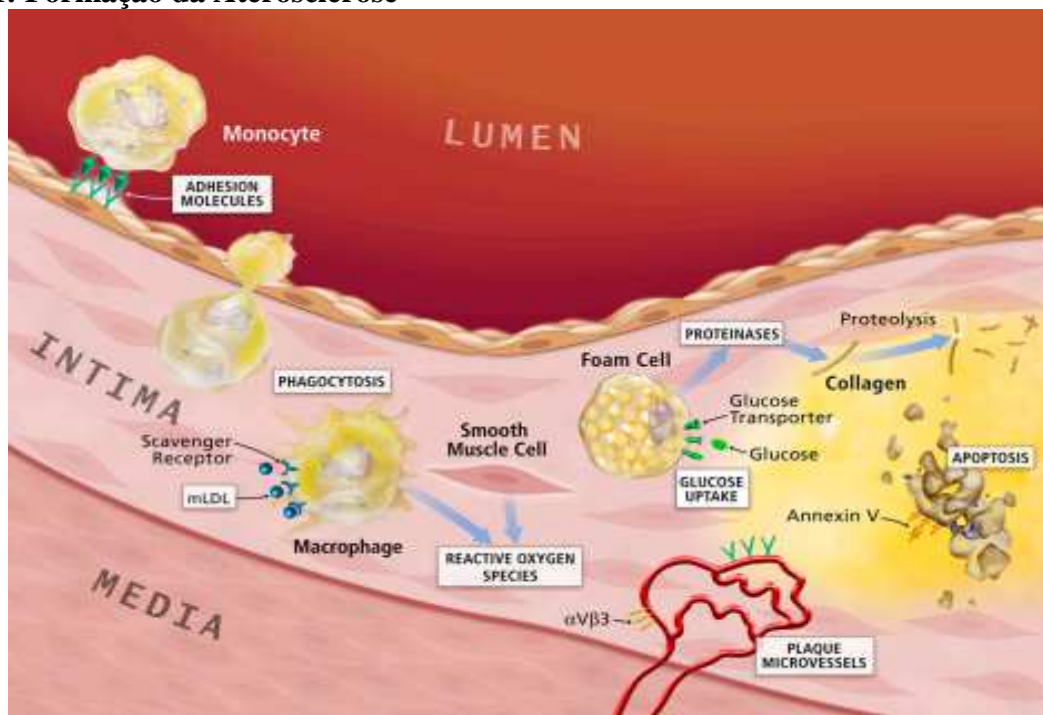
O endotélio é considerado por Melo(2007) como o maior órgão-alvo da HAS, devido sua superfície total, massa e importância metabólica. Não obstante, é também o revestimento de todos os vasos sanguíneos, e quando saudável, possui importantes funções fisiológicas tais como: produção de moléculas vasodilatadoras como o óxido nítrico (NO) (IGNARRO *et al.*, 1987), inibição da adesão e agregação plaquetária (KINLAY, LIBBY e GANZ, 2001), regulação do tônus vascular, proliferação das células musculares lisas, atuação na dissociação das substâncias fibrosas, combate à trombose e também a expressão de enzimas, como a superóxido dismutase (que neutraliza algumas espécies reativas de oxigênio) (CARVALHO *et al.*, 2001). Por conseguinte, Carvalho(2001) descreve que a HAS leva a um desequilíbrio da produção e liberação dos fatores citados acima, podendo gerar:

- ❖ Diminuição de óxido nítrico;
- ❖ Aumento de Espécies Reativas de Oxigênio (EROS);
- ❖ Aumento do tônus e permeabilidade vascular;
- ❖ Formação de edema subendotelial;
- ❖ Aumento da expressão de moléculas de adesão celular;
- ❖ Aumento da coagulação muscular intravascular;
- ❖ Hipertrofia/hiperplasia da parede vascular originada da proliferação de músculo liso.

Os níveis elevados e sustentados da pressão arterial (HAS), assim como outras doenças tais como: obesidade, dislipidemias, resistência à insulina e diabetes mellitus desencadeiam um processo inflamatório que, como visto, agride o endotélio vascular e é capaz de aumentar a permeabilidade da camada íntima da artéria, contribuindo para o processo aterogênico (CARVALHO *et al.*, 2001; HONG e MILLS, 2008).

Esse aumento da pressão arterial associados a fatores pró-aterogênicos e ao aumento de citocinas pró-inflamatórias causa um desequilíbrio nas funções do endotélio, aumentando a migração de células inflamatórias e diminuindo a fibrinólise. A Figura 1 apresenta o mecanismo de migração dos monócitos para a camada íntima arterial, que está consolidado na literatura científica. Essa adesão acontece simplificada por glicoproteínas presentes nos leucócitos e seu receptor específico nas células endoteliais. As moléculas de adesão celular agem diretamente nesse processo, aumentando a afinidade, ligando e aderindo firmemente o leucócito ao endotélio. As imunoglobulinas estudadas, VCAM-1 e ICAM-1, agem na parte da aderência ao endotélio, para que aconteça o processo de transmigração endotelial à camada íntima, conforme demonstra a figura 1 (LIBBY, DICARLI e WEISSLEDER, 2010; MILLS *et al.*, 2003).

**Figura 1: Formação da Aterosclerose**



Processo de formação da aterosclerose, iniciado pela adesão dos monócitos na camada íntima da artéria mediado pelas moléculas de adesão. (Figura retirada do artigo LIBBY, P., DICARLI, R., WEISSLEDER, R., 2010; Mills, P.J. *et al.*, 2003 p.35S).

Contudo conforme explicitado por Carvalho (2003) as influências da HAS no endotélio se caracterizam por serem desencadeadoras do processo aterogênico, entretanto necessita de mais estudos sobre a expressão das moléculas de adesão celular diretamente na HAS (HLUBOCKA *et al.*, 2002; LIBBY, DICARLI e WEISSLEDER, 2010; MILLS *et al.*, 2003).

Da mesma forma, o estudo específico das moléculas de adesão celular sabemos que o VCAM-1 é sintetizado a partir da ativação da via do nfkb, e que quando estimulado por citocinas pró-inflamatórias, principalmente TNF- $\alpha$  e IL-1 exerce influências negativas à saúde. A ICAM-1 também é liberada a partir da estimulação das citocinas, contudo também sofre influências pelo

estresse hemodinâmico, por exemplo, o estresse por cisalhamento, da HAS (LIBBY, DICARLI e WEISSLEDER, 2010; STONER *et al.*, 2013; TEODORO, 2010).

A interrelação da HAS com a o aumento da inflamação, e possível desencadeamento de aterosclerose, acontece diretamente ligada ao aumento do estresse por cisalhamento no local, pois esse aumento ocasiona uma retenção de LDL circulante. Sendo assim, surge a importância de estudar as moléculas de adesão celular (em foco: VCAM-1 e ICAM-1), que cada vez mais emerge nos estudos científicos com suas influências negativas à saúde devido à capacidade de agregar os leucócitos à camada íntima das artérias e o possível desencadeamento do processo aterosclerótico (CARVALHO *et al.*, 2001).

Por conseguinte sabemos que o perfil lipídico possui influências para o desenvolvimento de síndrome metabólica (EVALUATION *et al.*, 2001; SIQUEIRA, ABDALLA e FERREIRA, 2006) As moléculas que mais influenciam nessa patologia são as pró-aterogênicas como o aumento do LDLox e diminuição do HDL. Entretanto as concentrações sanguíneas não definem se as síndromes agudas irão acontecer, devido às diferenças dos tipos de oxidações e enzimas (SIQUEIRA, ABDALLA e FERREIRA, 2006)

## **1.2- Aterosclerose**

A aterosclerose pode ser considerada uma doença “regionalista”, ou melhor, “desenvolvimentista”. Isso é explicado pelo fato da doença estar diminuindo em países desenvolvidos e aumentando nos países em desenvolvimento. Hábitos e mudanças no estilo de vida estão em destaque para essa diminuição (SPOSITO *et al.*, 2007).

Por ser considerada uma doença crônica, de caráter inflamatório, degenerativo e desencadeada a partir de múltiplos fatores, a aterosclerose consiste em um tema de grande relevância para os estudos atuais, pois sua progressão acarreta na diminuição da área de secção transversa das artérias, prejudicando, por exemplo, a oxigenação dos tecidos (SPOSITO *et al.*, 2007).

A gênese da aterosclerose se inicia, principalmente, com a presença de uma disfunção endotelial e com o aumento das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) na circulação. Desta maneira com um consequente aumento da ligação das LDL na camada íntima do endotélio. Enquanto a relação da LDL é diretamente proporcional ao desenvolvimento do processo aterosclerótico, percebe-se que a lipoproteína de alta densidade (HDL) se relaciona de forma inversamente proporcional ao processo inflamatório citado anteriormente. Ou seja, quanto maior os níveis de HDL circulantes, melhor o perfil lipídico, e menor as chances de desencadear placas de ateromas (BARTER, 2005).

Quando o endotélio é submetido a um estresse por cisalhamento, ou outras comorbidades citadas acima, há um aumento da produção de proteínas de adesão celular. O aumento das proteínas de adesão celular gera uma migração de células inflamatórias, citocinas pró-inflamatórias e recrutamento das lipoproteínas para formação da placa aterosclerótica (CROWTHER, 2005). As proteínas de adesão celular são estimuladas pelo estilo de vida e certas patologias. Segundo Libby (2006) dietas ricas em gorduras, tabagismo, HAS, hipercolesterolemia, hiperglicemia, obesidade e resistência à insulina entre outros, são estímulos às moléculas de adesão se ligarem aos leucócitos e migrarem para a parede arterial (LIBBY, 2006). Entretanto é importante ressaltar as diferenças do estresse por cisalhamento gerado por patologias ou pelo exercício físico, essa diferença se baseia que o exercício realiza esse estresse de forma aguda, e a patologia de forma contínua. Sendo que o exercício gera um estímulo positivo ao organismo e a HAS uma sobrecarga ao organismo com influências negativas (TEODORO *et al.*, 2010).

As lipoproteínas plasmáticas, principalmente as de baixa densidade (LDL), permanecem na camada subendotelial e são oxidadas a LDLox, que é um estímulo para o endotélio expressar suas moléculas de adesão intercelular (ICAM-1) e as moléculas de adesão da célula vascular (VCAM-1) que possuem como característica em comum, o recrutamento de leucócitos. Essas moléculas servem de atrativo para a adesão precoce de monócitos e linfócitos às células endoteliais.

### **1.3- Exercício físico**

O exercício físico quando realizado com sistematização de treinamento, frequência e periodização controlada, melhora os aspectos fisiológicos dos sistemas cardiorrespiratório, endócrino, imune, muscular, nervoso, entre outros. Neste sentido, o exercício físico também é consagrado, no meio científico, como mecanismo não farmacológico para prevenção primária e secundária de doenças crônicas tais como: HAS, aterosclerose, disfunção endotelial, diabetes mellitus tipo II, obesidade, síndrome metabólica, câncer, depressão, osteoporose e osteoartrose (HISCOCK e PEDERSEN, 2002; MOREIRA *et al.*, 2009; PEDERSEN e HOFFMAN-GOETZ, 2000; ROQUE *et al.*, 2013; SCHARHAG *et al.*, 2005; WARBURTON, NICOL e BREDIN, 2006). Contudo o exercício quando realizado de forma aguda, pode ser um grande gerador de estresse oxidativo ao organismo.

Os estudos nacionais e internacionais nos apresentam uma grande quantidade de informações sobre as influências do exercício físico no controle bioquímico e de certas patologias relacionadas ao sistema cardiovascular (ROBERT A. ROBERGS AND DARYL PARKER, 2004; TEODORO, 2010).

O exercício quando realizado regularmente provoca adaptações crônicas em âmbito hemodinâmico e autonômico que exercem influências diretas no sistema cardiovascular. Durante o exercício físico, sabemos que, a pressão arterial sistólica possui aumento diretamente proporcional ao aumento do débito cardíaco e a pressão arterial diastólica possui relação com a resistência vascular periférica e a influência dos mecanismos vasodilatadores e inflamatórios durante o exercício (JOHNSON *et al.*, 2014).

Durante situações estressantes, como o exercício, o organismo se defende com certos mecanismos inflamatórios. Esses mecanismos podem ser via sistema nervoso autônomo, com liberação de adrenalina, noradrenalina, aumento do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e maior produção de cortisol. Esses neurotransmissores e hormônios agem no endotélio vascular dificultando os mecanismos de vasodilatação e vasoconstrição necessários ao organismo (HUANG *et al.*, 2013).

#### **1.4- Chocolate**

Em concordância com os estudos apresentados anteriormente iremos abordar especificamente a classe dos flavonoides, em especial os encontrados no chocolate. Os flavonoides são um grupo de polifenóis que possuem ação antioxidante e antitrombótica (GENKINGER *et al.*, 2004; HUNG *et al.*, 2004). Segundo Lee (2003) os produtos de cacau (polifenóis, flavonoides [epicatequinas]) possuem maior capacidade antioxidante quando comparados aos chás e vinhos. Por conseguinte o chocolate preto amargo possui cerca de três vezes mais flavonoides quando comparados ao chocolate branco e ao chocolate ao leite. Deve-se salientar que além do chocolate amargo possuir maiores concentrações de substâncias antioxidantes, há o benefício adicional de possuir maior absorção intestinal quando comparados ao chocolate ao leite, e isso se deve à inibição da absorção de flavonoides pelo leite do chocolate mais palatável (SERAFINI *et al.*, 2003).

Sendo assim, o estudo relacionado ao chocolate deve-se à trajetória acadêmica e o grande interesse nas áreas de nutrição esportiva e bioquímica do exercício físico. Acredita-se que esse interesse surgiu com a realização dos Módulos de Bases Bioquímicas e Fisiológicas I e II e Nutrição Esportiva realizados na graduação em educação física da Universidade Federal de São Paulo- Campus Baixada Santista, complementados com o módulo Metabolismo e Nutrição realizados na graduação sanduíche em Ciências do Desporto na Universidade do Porto/ Portugal e as respectivas monitorias realizadas aos três módulos.

A partir desse interesse, iniciaram-se os estudos científicos com estresse por cisalhamento, moléculas de adesão celular e suplementação. Os estudos propiciaram o entendimento do estado da arte do tema e a percepção que as pesquisas tem se desenvolvido no âmbito amostral de normotensos, hipertensos e as diversas relações com o exercício. Entretanto foi

percebido que a literatura podia se enriquecer mais com estudos que relacionasse exercício e suplementação em pré-hipertensos. Não obstante julga-se importante o estudo a essa população para a sociedade em geral, pois ele pode diminuir a evolução dessa patologia para hipertensão estágio I, diminuindo assim gastos públicos e doenças cardiovasculares.

Por conseguinte os estudos nacionais e internacionais nos apresentam uma grande quantidade de informações sobre as influências do exercício físico no controle bioquímico de certas patologias relacionadas ao sistema cardiovascular. Os estudos demonstram a enorme presença de patologias decorrentes do sistema cardiovascular e cabe ao profissional de educação física utilizar dos benefícios do exercício físico consagrados na literatura científica amparando-se a novos estudos para minimizar os efeitos das doenças.

Diante do exposto, o problema deste estudo é: Em que medida a suplementação de 100g de chocolate preto, e seu conteúdo em flavonoides, exerce influências em biomarcadores metabólicos e ventilatórios de indivíduos pré-hipertensos quando aliados ao exercício físico agudo?

Por conseguinte o objetivo geral se caracterizou por avaliar o efeito de duas sessões agudas de exercício físico incremental em biomarcadores metabólicos e ventilatórios em pré-hipertensos. Sendo portanto os objetivos específicos:

- ❖ Analisar os parâmetros ventilatórios  $VO_2$ , VE,  $VE/VO_2$ ,  $VE/VCO_2$  e R durante os testes com a presença ou ausência de chocolate rico em cacau;
- ❖ Analisar a atividade de CK e LDH no soro e a concentração sérica de glicose, colesterol total, HDL, LDL e TAG.

Os desafios desse estudo consistem na prática do exercício físico programado de forma aguda com e sem suplementação de flavonoides encontrados no cacau. No entanto almejamos que essa suplementação exerça uma diminuição nos parâmetros oxidativos, especificamente creatina quinase e lactato desidrogenase. Considerando as diferenças entre os indivíduos normotensos e hipertensos, podemos citar a influência da pressão arterial e do estresse por cisalhamento no endotélio vascular podendo assim haver diferenças a nível bioquímico dessa expressão com e sem suplementação e em indivíduos pré-hipertensos.



## 2- MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida a partir do método descritivo, num estudo predominantemente quantitativo, tal como elucidado em Thomas e Nelson (2002). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da UNIFESP sob o número 623.100/2014.

### 2.1 Amostra

A amostra constitui-se por 8 indivíduos do sexo masculino, segundo critérios de inclusão e não-inclusão descritos a seguir:

#### **Inclusão:**

- ❖ Homens de 20 a 40 anos de idade;
- ❖ Pressão Arterial Sistólica de 130-139mmHg e/ou Diastólica entre 85-89mmHg.

#### **Não-inclusão:**

- ❖ Portadores de qualquer anormalidade física que impossibilitasse a realização do exercício físico;
- ❖ Uso de drogas de abuso, tais como álcool, tabaco, inalantes, maconha, cocaína, LSD, mescalina, extratos de cogumelos, entre outros;
- ❖ Possuir doenças crônicas (dislipidemias, HAS acima do nível 1);

Os indivíduos participantes deste projeto foram recrutados pela pesquisadora a partir da divulgação do estudo pela assessoria de imprensa da UNIFESP, divulgação em redes sociais e pela própria pesquisadora.

#### **Classificação do sujeito como pré-hipertenso**

Para classificação do sujeito como pré-hipertenso foi realizada aferição da pressão arterial por três dias consecutivos, no mesmo período do dia, bem como no dia do teste o sujeito permaneceu por 30 minutos sentado e após isso foram realizadas duas aferições auscultatórias da pressão arterial, em ambos os membros superiores do indivíduo, sendo considerado o maior valor obtido nas aferições.

## 2.2- Procedimentos

Os voluntários compareceram ao Laboratório do Centro de Estudos e Pesquisa em Psicobiologia do Exercício (CEPE) da UNIFESP em três momentos distintos com intervalo mínimo de uma semana entre cada procedimento.

No primeiro dia foram dadas todas as informações relativas ao projeto tais como os objetivos e procedimentos a que os voluntários seriam submetidos nas intervenções subsequentes. Ao final das explicações os voluntários tomaram ciência do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice 1) e o assinaram. Após a assinatura, os voluntários realizaram testes de composição corporal (Massa Corporal, Estatura, Plestimografia, Bioimpedância e Perimetria), avaliação da capacidade aeróbia e Eletrocardiograma de repouso e esforço.

O teste ergoespirométrico foi realizado concomitantemente ao eletrocardiograma acompanhado por uma médica. O protocolo escolhido foi de cargas crescentes, para determinação das seguintes variáveis: consumo máximo ou pico de oxigênio ( $\text{VO}_2$  máx./ $\text{VO}_2$  pico), limiar ventilatório (LV-I), frequência cardíaca máxima (FCMÁX), frequência cardíaca do limiar ventilatório (FCLAV-I) e frequência cardíaca do limiar ventilatório II (FCLAV-II).

No segundo e terceiro dia os voluntários permaneceram em estado confortável para aferição da pressão arterial e para a coleta do sangue basal, seguindo para o protocolo de exercício físico com ou sem suplementação com chocolate. O protocolo foi realizado em esteira e consistiu em cargas crescentes, iniciando o teste à 5 km/h, aumentando 1 km/h a cada 3 minutos e interrompendo o exercício quando o voluntário alcançar seu esforço máximo seguindo diretamente para a coleta de sangue pós exercício.

A suplementação foi realizada com 100g de chocolate preto, Cacau Show® 85% cacau, que foram administrados antes da intervenção do exercício físico, respeitando o tempo de absorção de duas horas tal como estudo realizado por Taubert (2003). Para maior fidedignidade dos resultados adotamos o padrão de jejum de quatro horas anteriormente à realização do teste, sendo que nos dias que o chocolate foi suplementado o voluntário permaneceu por duas horas em jejum, antes da ingestão do chocolate, e depois aguardou o tempo de absorção completo para a coleta de sangue e realização do protocolo de exercício.

Os testes foram realizados no laboratório do CEPE com a temperatura e a pressão controladas juntamente com o médico e os profissionais de Educação Física.

### 2.3- Coleta de sangue

Imediatamente antes e depois do protocolo de exercício foram coletados 20 ml de sangue venoso. O sangue foi armazenado em tubos com e sem anticoagulante ou contendo 50µl de heparina de sódio (125 UI) até a centrifugação. O Sangue total foi centrifugado a 690xG durante 15 minutos a 4 °C, sendo o plasma e o soro extraídos, aliquotados e armazenados em freezer -80°C para posteriores dosagens.

#### Determinação dos parâmetros plasmáticos

❖ **Glicose:** a concentração plasmática de glicose foi determinada enzimaticamente utilizando um kit da Labtest®, seguindo as recomendações do fabricante.

As concentrações plasmáticas de Colesterol Total, LDL, HDL, Triacilglicerol, Creatina Quinase, Lactato Desidrogenase foram determinadas enzimaticamente pelos kits da Labtest®, seguindo todas as recomendações do fabricante

#### Parâmetros fisiológicos

❖ **Parâmetros ventilatórios:** Consumo Máximo ou Pico de Oxigênio ( $VO_2$  máx./ $VO_2$  pico), Limiar Ventilatório (LV-I), Produção de Gás carbônico ( $VCO_2$ ), Quociente respiratório (R), Ventilação (VE), Razão ventilação e Consumo de oxigênio ( $VE/VO_2$ ), Razão ventilação e produção de gás carbônico ( $VE/VCO_2$ )

### 2.4- Análise estatística

Os dados foram expressos em médias e desvios padrão. Para tratamento estatístico foram utilizados os programas informáticos Statistical Programme for the Social Science (SPSS) versão 20.0 e GraphPad Prism 6 para o Windows. Utilizamos o teste de normalidade de Shapiro Wilk, e a partir dos resultados, utilizamos o teste T-Pareado para amostras paramétricas e o teste de Wilcoxon para amostras não-paramétricas dos parâmetros ventilatórios. Os resultados das análises sanguíneas foram obtidos por meio do teste estatístico Anova de duas vias, sendo que para ambos parâmetros o nível de significância foi adotado em 5% ( $P \leq 0.05$ ) (THOMAS, NELSON e SILVERMAN, 2002).

### 3- RESULTADOS

Diante do exposto, após todas as fases do estudo, com oito voluntários pré-hipertensos do sexo masculino os quais apresentam uma média de idade ( $M=31,8$ ;  $Dp=5,6$ ) anos, obtivemos os seguintes resultados de caracterização da amostra, em relação a dados antropométricos, ventilatórios e pressóricos.

**Tabela 2: Características da Amostra**

Variáveis	Média± Desvio Padrão
Massa Corporal (kg)	87,5±17,0
Estatura (cm)	178,9±8,9
Idade (anos)	31,8±5,6
Gordura (%)	24,1±5,3
VO <sub>2</sub> pico (ml/kg/min)	47,9±4,1
Limiar Ventilatório 1 (ml/kg/min)	33,2±6,4
Limiar Ventilatório 2 (ml/kg/min)	40,3±5,5
PAS (mmHg)	126,4±5,0
PAD (mmHg)	83,6±3,4

Massa corporal (kg), Estatura (cm), Idade (anos), Gordura (%), VO<sub>2</sub> pico (ml/kg/min), Limiar Ventilatório 1 e 2 (ml/kg/min), Pressão Arterial Sistólica (PAS/mmHg), Pressão Arterial Diastólica (PAD/mmHg). Os dados estão apresentados em Média e Desvio Padrão para variáveis paramétricas e não-paramétricas.

A partir dos dados apresentados na Tabela 3 descrevemos os valores sanguíneos dos grupos Controle e Chocolate (Antes e Após o protocolo de exercício físico). As dosagens foram realizadas a partir do soro/plasma armazenados para futuras dosagens dos biomarcadores Creatina Quinase (CK), Lactato Desidrogenase (LDH), Glicose, Colesterol, Lipoproteína de baixa densidade (LDL), Lipoproteína de alta densidade (HDL) e Triacilglicerol (TAG).

O monossacarídeo glicose foi maior no grupo controle após o exercício físico ( $91,48\pm43,11\text{mg/dl}$ ) quando comparado com valor pré-exercício ( $57,04\pm 16,17\text{mg/dl}$ ) na mesma condição. As enzimas CK e LDH obtiveram aumento no grupo chocolate após o exercício físico ( $CK-30,43\pm14,70\text{mg/dl}$ ) e ( $LDH-39,27\pm3,19\text{mg/dl}$ ) comparado aos valores pré exercício ( $CK-12,74\pm18,29\text{mg/dl}$ ) e ( $LDH-37,00\pm4,00\text{mg/dl}$ ) e comparado ao grupo controle ( $CK-17,24\pm6,73\text{mg/dl}$ ) ( $LDH-35,02\pm1,71\text{mg/dl}$ ). O colesterol total apresentou aumento no grupo chocolate após exercício físico ( $182,81\pm60,68\text{mg/dl}$ ) quando comparado ao grupo controle após exercício físico ( $140,55\pm39,89\text{mg/dl}$ ), sendo que a fração do colesterol total HDL também aumentou tanto no grupo chocolate após o exercício físico ( $294,55\pm133,15\text{mg/dl}$ ) comparado aos valores pré exercício ( $186,86\pm67,54\text{mg/dl}$ ) e quando comparado ao grupo controle

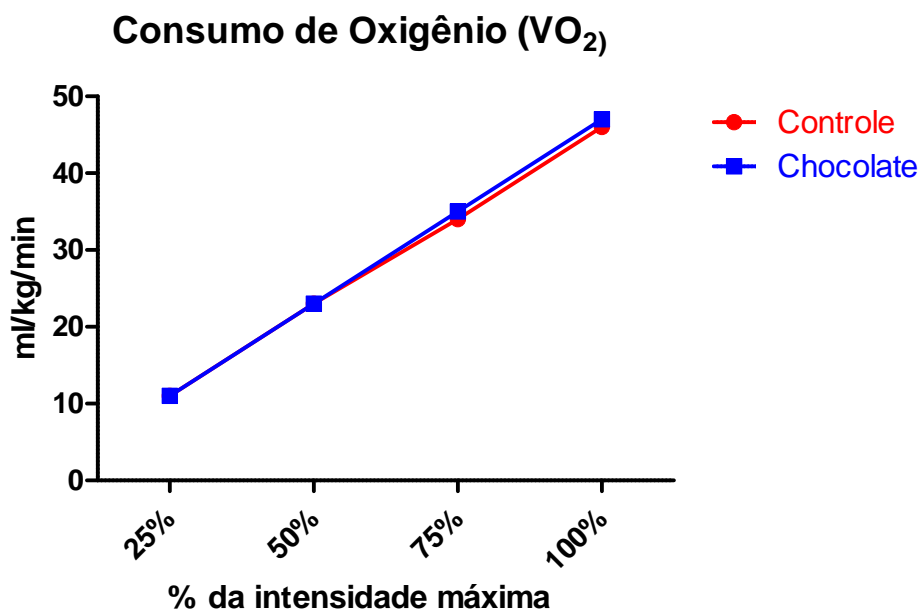
(198,78±73,86mg/dl). Por fim o triacilglicerol obteve aumento significativo no grupo chocolate após protocolo (373,20±168,67mg/dl) quando comparados aos valores antes do protocolo de exercício (242,38± 74,77mg/dl).

**Tabela 3- Análises Sanguíneas**

	Controle Antes	Controle Após	Chocolate Antes	Chocolate Após
CK (mg/dl)	11,75±4,70	17,24±6,73	12,74±18,29	30,43±14,70 <sup>AB</sup>
LDH (mg/dl)	35,07±1,96	35,02±1,71	37,00±4,00	39,27±3,19 <sup>AB</sup>
Glicose (mg/dl)	57,04± 16,17	91,48±43,11 <sup>A</sup>	72,27± 43,39	71,02±19,25
Colesterol (mg/dl)	165,33±63,02	140,55±39,89	146,35±46,59	182,81±60,68 <sup>B</sup>
LDL (mg/dl)	2,11±1,39	3,53±2,03	2,35±1,43	2,90±1,77
HDL (mg/dl)	166,42±63,08	198,78±73,86	186,86±67,54	294,55±133,15 <sup>AB</sup>
TAG (mg/dl)	293,49±116,95	306,45±104,50	242,38± 74,77	373,20±168,67 <sup>A</sup>

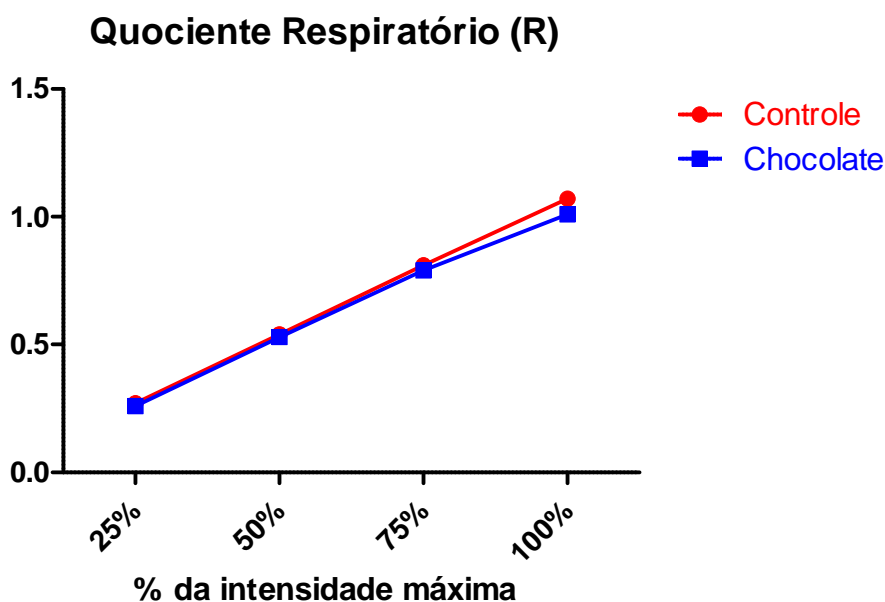
Análises sanguíneas de Creatina Quinase (CK), Lactato Desidrogenase (LDH), Glicose, Colesterol, Lipoproteína de baixa densidade (LDL), Lipoproteína de alta densidade (HDL), Triacilglicerol (TAG) no grupo controle e chocolate antes e após o protocolo de exercício físico. Os dados estão apresentados em média± desvio-padrão sendo que utilizamos a estatística descritiva Anova de duas vias. <sup>A</sup>- Comparação antes e após protocolo de exercício físico em ambos os grupos, <sup>B</sup>- Comparação antes e após intergrupos controle e chocolate. O nível de significância foi adotado em  $P \leq 0,05$ .

No que se refere aos Parâmetros Ventilatórios analisamos os valores de Consumo de Oxigênio Pico e submáximo (figura 5), Razão de Troca Respiratória (figura 6), Ventilação (figura 7), Razão Ventilação/Consumo de Oxigênio (figura 8) e Razão Ventilação/Volume de Gás Carbônico (figura 9) descritos em médias e desvios padrão de cada quartil no Teste Controle (sem chocolate-Vermelho) e Teste Chocolate (com chocolate-Azul), sendo que nenhum dos parâmetros ventilatórios apresentou diferenças significativas intergrupo.



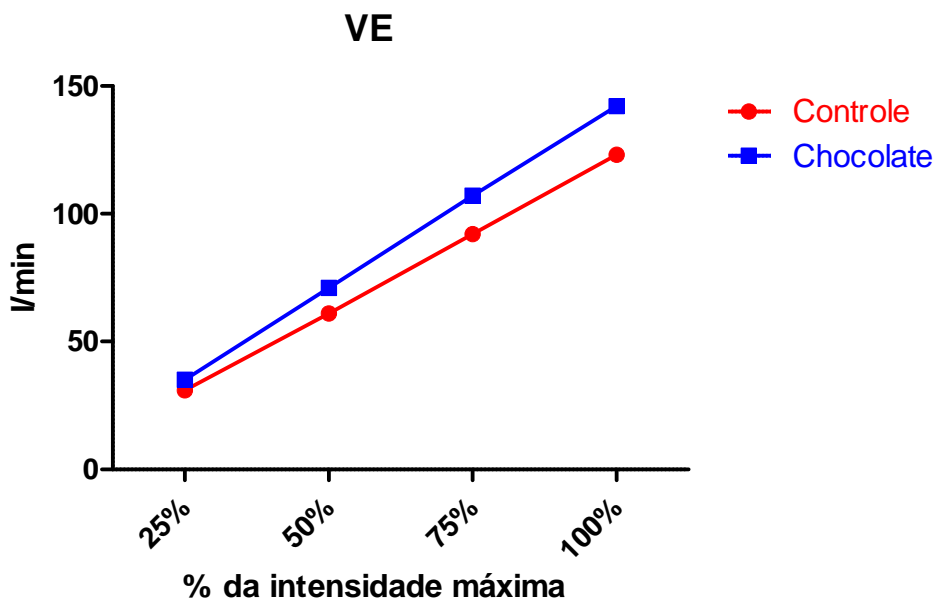
**Figura 2: Consumo de Oxigênio ( $\text{VO}_2$ )**

Comparação do Consumo de Oxigênio nas intensidades de 25, 50, 75 e 100% do máximo no grupo sem chocolate (Controle-Linha vermelha) e com Chocolate 85% cacau (Chocolate-Linha azul). Os dados estão apresentados em Médias e Desvios Padrão, sendo que a comparação foi realizada com Test-T Pareado. Em nenhuma intensidade foi encontrado valores estatisticamente significativos. O nível de significância foi adotado em  $P \leq 0,05$  (\*).



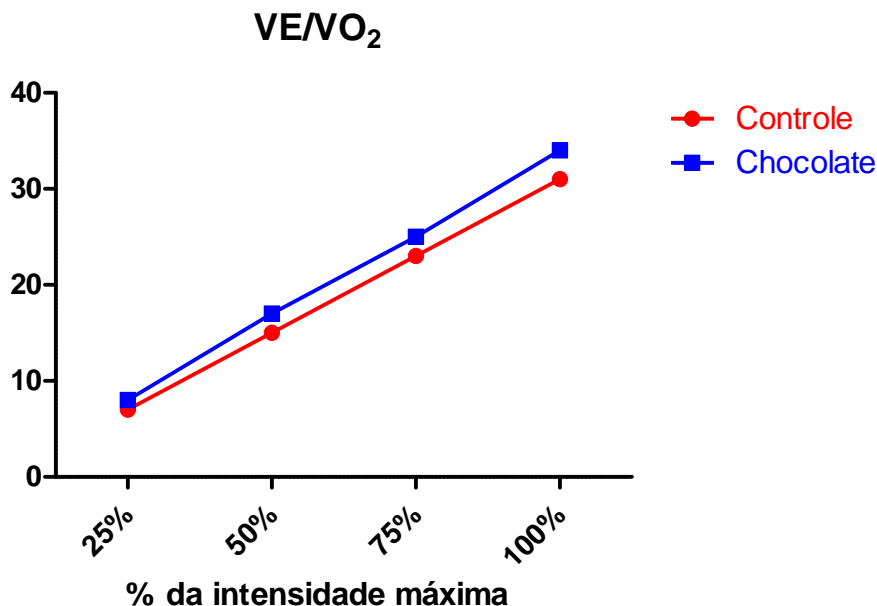
**Figura 3: Razão de Troca Respiratória (R)**

Comparação da Razão de Troca Respiratória (R) nas intensidades de 25, 50, 75 e 100% do máximo no grupo sem chocolate (Controle-Linha vermelha) e com Chocolate 85% cacau (Chocolate-Linha azul). Os dados estão apresentados em Médias e Desvios Padrão, sendo que a comparação foi realizada com Test-T Pareado. Em nenhuma intensidade foi encontrado valores estatisticamente significativos. O nível de significância foi adotado em  $P \leq 0,05$  (\*).



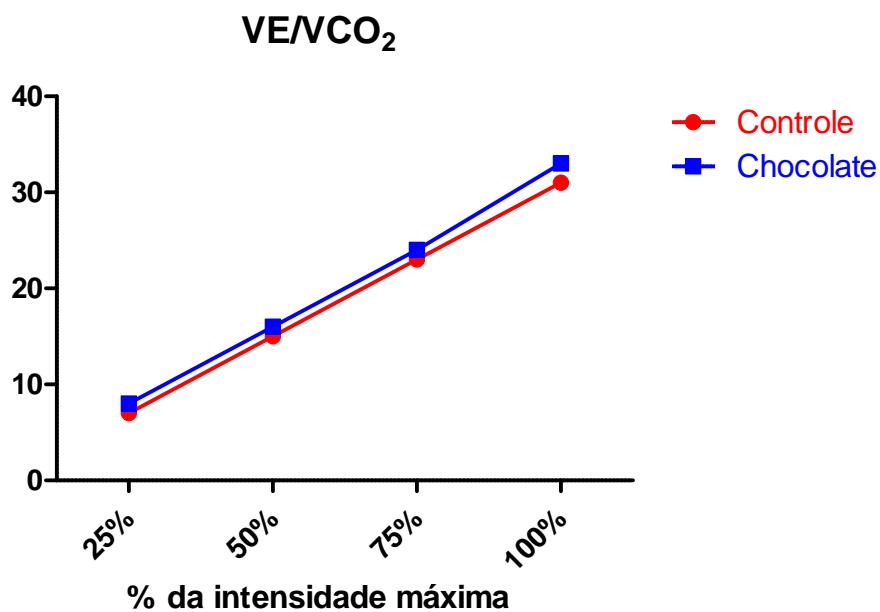
**Figura 4: Ventilação (VE)**

Comparação da Ventilação (VE) nas intensidades de 25, 50, 75 e 100% do máximo no grupo sem chocolate (Controle-Linha vermelha) e com Chocolate 85% cacau (Chocolate-Linha azul). Os dados estão apresentados em Médias e Desvios Padrão, sendo que a comparação foi realizada com Test-T Pareado. Em nenhuma intensidade foi encontrado valores estatisticamente significativos. O nível de significância foi adotado em  $P \leq 0,05$  (\*).



**Figura 5: Razão Ventilação/ Consumo de Oxigênio (VE/ VO<sub>2</sub> )**

Comparação da Razão Ventilação/ Consumo de Oxigênio (VE/ VO<sub>2</sub> nas intensidades de 25, 50, 75 e 100% do máximo no grupo sem chocolate (Controle-Linha vermelha) e com Chocolate 85% cacau (Chocolate-Linha azul). Os dados estão apresentados em Médias e Desvios Padrão, sendo que a comparação foi realizada com Test-T Pareado. Em nenhuma intensidade foi encontrado valores estatisticamente significativos. O nível de significância foi adotado em  $P \leq 0,05$  (\*).



**Figura 6: Razão Ventilação/ Volume de Gás Carbônico ( $VE/ VCO_2$ )**

Comparação da Razão Ventilação/ Volume de Gás Carbônico ( $VE/ VCO_2$ ) nas intensidades de 25, 50, 75 e 100% do máximo no grupo sem chocolate (Controle-Linha vermelha) e com Chocolate 85% cacau (Chocolate-Linha azul). Os dados estão apresentados em Médias e Desvios Padrão, sendo que a comparação foi realizada com Test-T Pareado. Em nenhuma intensidade foi encontrado valores estatisticamente significativos. O nível de significância foi adotado em  $P \leq 0,05$  (\*).












## 4- DISCUSSÃO


O presente estudo teve como objetivo geral avaliar o efeito de duas sessões agudas de exercício físico incremental realizado em esteira sob biomarcadores metabólicos e ventilatórios em pré-hipertensos. Se recorrermos à caracterização da amostra percebemos que a média das pressões arteriais são consideradas normais (PAS=  $126,4 \pm 5,0$  e PAD  $83,6 \pm 3,4$ ). Entretanto isso se deve ao fato que alguns voluntários foram considerados pré-hipertensos pela pressão arterial sistólica e alguns pela pressão arterial diastólica, tal como descrito pela VI Diretriz de Brasileira de Hipertensão (BRANDÃO *et al.*, 2010).


A partir do pressuposto, o estudo encontrou diferenças estatisticamente significativas no aumento de HDL no grupo chocolate após exercício físico quando comparado ao grupo controle. Da mesma forma ocorreu com as enzimas CK e LDH que são caracterizadas como marcadores de lesão muscular. O estudo também apresenta aumento estatisticamente significativo na Glicose no grupo controle após o exercício físico, quando comparado aos valores pré-exercício. O perfil lipídico se diferenciou pelo aumento do colesterol total no grupo chocolate quando comparado ao grupo controle após o exercício físico e aumento do triacilglicerol no grupo chocolate após o exercício físico quando comparados aos valores antes do protocolo de exercício, todos com significância estatística. A figura 7 apresenta um quadro ilustrativo dos resultados encontrados.


**Figura 7: Principais resultados**

RESULTADOS	CONTROLE	CHOCOLATE
Glicose		
CK		 
LDH		 
COLESTEROL TOTAL		
LDL		
HDL		 
TAG		

Legendas:

 - Aumento significativo comparado ao Grupo Controle antes do exercício;

 - Aumento significativo comparado ao Grupo Controle após o exercício;

 - Aumento significativo comparado ao Grupo Chocolate antes do exercício.

A glicose é o monossacarídeo mais abundante no mundo e possui grande importância para o metabolismo energético (NELSON, LEHNINGER e COX, 2008) sendo útil para a manutenção das funções de diversos tipos celulares e produção de energia durante o exercício. A partir dos resultados apresentados anteriormente e ilustrados na figura 7 percebemos que a Glicose aumentou no grupo controle após o exercício físico quando comparado aos valores pré-exercício. Em contrapartida do nosso estudo, Callow *et al* (1986) apresentaram que a glicose sanguínea diminui quando os atletas estavam fadigados, como por exemplo numa corrida de maratona, o que não era percebido quando o estresse não era tão expressivo. Acreditamos que esse aumento seja explicado por mecanismos de produção energética da Neoglicogênese para o esforço apresentado. Lembrando que a neoglicogênese consiste na produção de glicose a partir de substratos não glicídios tal como lactato e glicerol e essa via é estimulada em situações de jejum e exercício físico para utilização como substrato energético (CALLOW, MORTON e GUPPY, 1986; FEO, DE *et al.*, 2003; ZDERIC *et al.*, 2004).

No que se refere às enzimas principais do metabolismo anaeróbio de produção de energia, em foco CK e LDH, observamos aumentos significativos no grupo chocolate após o exercício e comparado ao grupo controle. As enzimas supracitadas, localizadas principalmente no citoplasma das células musculares, são fundamentais para o metabolismo anaeróbio de produção de energia, sendo a CK a enzima responsável pela via ATP-CP-alática e a LDH a enzima responsável pela conversão do piruvato à lactato com auxílio da coenzima  $\text{NAD}^+$  na via considerada láctica. Segundo a literatura científica, o aumento dessas enzimas no soro/plasma pode indicar aumento na lesão celular (BROWN *et al.*, 1997; FOSCHINI, PRESTES e CHARRO, 2007; NOSAKA e NEWTON, 2002). Em relação com o chocolate, não encontramos nenhum trabalho nas línguas portuguesa e inglesa que englobem os biomarcadores de lesão celular CK e LDH, após o consumo do chocolate. Conforme citado anteriormente, essas enzimas são consideradas marcadores de lesão celular, podendo lesar o músculo por ações concêntricas ou excêntricas das membranas, linha Z, sarcolema, túbulos T e miofibrilas. Contudo essas enzimas possuem a característica de serem impermeáveis à membrana sarcoplasmática, e quando ocorre a lesão celular elas são extravasadas para o plasma, sendo importantes marcadores indiretos (FOSCHINI, PRESTES e CHARRO, 2007).

Esse trabalho consiste no primeiro a abordar essa relação na população de pré-hipertensos e iremos listar as possíveis explicações para esse aumento de lesão celular. Ele pode ser atribuído porque o chocolate aumentou a disponibilidade de substratos energéticos, como fica evidente pela mudança do perfil lipídico, aumentando assim a utilização das vias energéticas totais. Podemos ressaltar também um possível aumento de substratos para o metabolismo oxidativo, o que geraria um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio e radicais livres, ocasionando mais lesão celular e gerar um desequilíbrio do estado redox da célula muscular resultando em

aumento do estresse oxidativo a despeito dos efeitos antioxidantes dos flavonoides. Segundo Foschini *et al*, 2006 o exercício físico agudo gera um aumento nos biomarcadores metabólicos de CK e LDH. Principalmente quando há acentuação da carga excêntrica e menor tempo de recuperação.

O perfil lipídico se caracteriza pela mensuração dos valores de lipídios no sangue, ele é composto principalmente pelo colesterol, suas frações de LDL e HDL e triacilglicerol (NELSON, LEHNINGER e COX, 2008). A respeito disso, averiguamos o aumento do colesterol total no grupo chocolate quando comparado ao grupo controle após o exercício físico. Contudo explicamos a causa do aumento total do colesterol por grande contribuição da fração HDL, estimulado na presença do chocolate, pois não notamos diferenças significativas no grupo controle (LELY, VAN DER *et al.*, 2004; NEUFINGERL *et al.*, 2013). As lipoproteínas e demais componentes do perfil lipídico são essenciais para os processos do organismo, entre eles podemos citar a formação de hormônios, formação de membranas plasmáticas, utilização como substrato energético, entre outros.

Com o que diz respeito à fração de HDL notamos aumento no grupo chocolate após exercício físico quando comparado ao grupo controle. O estudo de Sondergaard (2014) demonstra que os níveis de HDL aumentam logo após o exercício físico agudo de intensidade moderada. Entretanto tendem a retornar aos valores basais ou até mesmo diminuir no período de recuperação confirmando portanto nossos resultados.

Os estudos de Tiainen *et al* (2014) e Sondergaard (2014) demonstram que o aumento dos níveis de HDL comumente estão relacionados com o aumento nos níveis de LDL no organismo, em tendência a minimizar os riscos ateroscleróticos (LATHAM, HENSEN e MINOR, 2014). Entretanto nosso estudo não apresentou alterações significativas para os níveis de LDL, podendo ser um benefício do chocolate rico em cacau para o perfil lipídico. O cacau assim como a figura 3 ilustra, consiste no alimento que possui a maior concentração de flavonoides, entre esses as catequinas, epicatequinas e a teobromina. A teobromina, assim como descrito por Neufingerl *et al* (2013), possui grande influência no aumento dos níveis séricos de HDL, esse artigo fundamenta o motivo desse aumento não ser significativo na ausência do chocolate rico em cacau.

**Figura 7: Concentração de flavonoides no cacau**

<b>TABLE I. Flavanol Concentrations Found in Food<sup>3</sup></b>	
<b>Source</b>	<b>Flavanol Content, mg/kg or mg/L</b>
Chocolate	460–610
Legume-type beans	350–550
Apricots	100–250
Grapes	30–175
Blackberries	130
Apples	20–120
Green tea	100–800
Black tea	60–500
Red wine	80–300

FIGURA RETIRADA DO ARTIGO: CHOCOLATE--guilty pleasure or healthy supplement? (LATHAM, HENSEN e MINOR, 2014)

Nessa perspectiva percebemos em nossos resultados aumento do triacilglicerol no grupo chocolate após o exercício quando comparados aos valores antes do protocolo de exercício físico. Podemos atribuir o aumento do TAG circulante para uma maior mobilização de substrato gerada pelo esforço físico empregado, o que também acontece em outros estudos (SONDERGAARD *et al.*, 2014).

Se nos remetermos à literatura científica, nos deparamos com o estudo de Davison *et al* (2012) que realizaram o exercício agudo com a suplementação de chocolate 70% cacau, respeitando o mesmo tempo de absorção de duas horas e coletas de sangue pré e pós protocolo físico. Esse estudo nos diz que o chocolate amargo aumenta as concentrações de catequinas e epicatequinas circulantes, melhorando a resposta antioxidante do indivíduo. Entretanto não encontram diferenças significativas em fatores imunoendócrinos relacionados ao exercício físico agudo e suplementação de chocolate que ainda pretendemos analisar (DAVISON *et al.*, 2012; ENGLER *et al.*, 2004).

Nessa perspectiva Allgrove *et al.* (2011) realizou uma suplementação com chocolate amargo de duas semanas e percebeu melhoras em marcadores de estresse oxidativo e aumento da mobilização de ácidos graxos livres após o exercício. Em contrapartida Engler *et al.* (2004) não encontrou melhora nos parâmetros oxidativos, nem perfil lipídico, mas encontrou melhora na função endotelial.

Segundo o estudo conduzido por Taubert *et al.* (2003) o chocolate rico em cacau propicia uma diminuição da pressão arterial sistólica e diastólica em 10 dias, devido suas influências vasodilatadoras no endotélio vascular, o que de fato seria muito benéfico para a população estudada.

Nessa perspectiva ao analisar os parâmetros ventilatórios durante os protocolos de exercício físico incremental em esteira, com e sem suplementação de chocolate, obtivemos os valores médios do Consumo de Oxigênio Pico e submáximo, Razão de Troca Respiratória, Ventilação, Razão Ventilação/Consumo de Oxigênio e Razão Ventilação/Volume de Gás Carbônico em todos os estágios do teste incremental sendo eles: 5km/h, 6km/h, 7km/h, 8km/h, 9km/h, 10 km/h, 11km/h, 12km/h, 13km/h e 14 km/h. Entretanto, devido a individualidade biológica dos voluntários, os valores estão expostos em porcentagem quartis de 25%,50%,75% e 100%.

Apesar dos resultados significativos nas análises sanguíneas, essas não foram eficientes para exercer influências nos parâmetros ventilatórios durante o protocolo proposto.

As principais limitações do estudo consistem no tempo de realização de todos os testes, a dificuldade da amostra de sujeito pré-hipertensos, o atraso na importação dos principais kits de imunoglobulinas VCAM-1 e ICAM-1, falta de um protocolo para aferição da pressão arterial após o exercício e ausência da coleta de sangue nos períodos de recuperação para averiguar se os principais resultados ocorreram de forma aguda ou após o exercício físico.

## 5- CONCLUSÃO

O protocolo de exercício incremental vinculado à suplementação de chocolate rico em cacau aumentou os biomarcadores de lesão celular CK e LDH em indivíduos pré-hipertensos. Por outro lado, apresentou melhora expressiva nos valores de HDL, melhorando o perfil lipídico para prevenir o desenvolvimento de aterosclerose na mesma população. Apesar da verificação de alterações significativas nos biomarcadores metabólicos essas não foram eficientes para exercer mudanças nos parâmetros ventilatórios.

Estudos futuros são necessários com a relação de diferentes tipos de chocolate, entre eles: ao leite, 70% cacau e branco, explorando diversos protocolos de exercício para essa população, além da realização de coletas sanguíneas durante a recuperação.

## 6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLGROVE, J. *et al.* Regular dark chocolate consumption's reduction of oxidative stress and increase of free-fatty-acid mobilization in response to prolonged cycling. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 21, n. 2, p. 113–123, 2011.
- BARTER, P. The inflammation: lipoprotein cycle. **Atherosclerosis Supplements**, v. 6, n. 2, p. 15-20, 2005.
- BRANDÃO, A. *et al.* VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Revista Hipertensão**, v.13, n.1, p.8-11, 2010.
- BROWN, S. J. *et al.* Exercise-induced skeletal muscle damage and adaptation following repeated. **Journal of Sports Sciences**, v. 15,n. 2, p.215-22, 1997..
- CALLOW, M.; MORTON, A. e GUPPY, M. Marathon fatigue: the role of plasma fatty acids, muscle glycogen and blood glucose. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, v. 55, n. 6, p. 654–661, 1986.
- CARVALHO, M. H. C. *et al.* Hipertensão arterial: o endotélio e suas múltiplas funções. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.8, n.1, p.76-88, 2001.
- CROWTER, M. A. *et al.* The pathogenesis and atherosclerosis. **Hematology**, v.5, n.1, p.436-441, 2005.
- DAVISON, G. *et al.* The effect of acute pre-exercise dark chocolate consumption on plasma antioxidant status, oxidative stress and immunoendocrine responses to prolonged exercise. **European Journal of Nutrition**, v. 51, n. 1, p. 69–79, 2012.
- ENGLER, M. B. *et al.* Flavonoid-rich dark chocolate improves endothelial function and increases plasma epicatechin concentrations in healthy adults. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 23, n. 3, p. 197–204, 2004.
- EVALUATION *et al.* Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on Detection, Evaluation, and Treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). **JAMA**, v. 285, n. 19, p. 2486, 2001.
- FEO, P. DE *et al.* Metabolic response to exercise. **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 26, n. 9, p. 851–854, 2003.
- FOSCHINI, D.; PRESTES, J. e CHARRO, M. A. Relação entre exercício físico, dano muscular e dor muscular de início tardio. **Revista brasileira de cineantropometria e desempenho humano**, v. 9, n. 1, p. 101–106, 2007.
- GENKINGER, J. M. *et al.* Fruit, Vegetable, and Antioxidant Intake and All-Cause, Cancer, and Cardiovascular Disease Mortality in a Community-dwelling Population in Washington County, Maryland. **American Journal of Epidemiology**, v.160, n.12, p.1223-1233, 2004.
- GOLBIDI, S.; LAHER, I. Exercise and the Aging Endothelium. **Journal of diabetes research**, v.2013, n.1, p.1-12,2013.
- HISCOCK, N.; PEDERSEN, B. K. Exercise-induced immunodepression- plasma glutamine is not the link. **Journal of Applied Physiology**, v. 93, n. 3, p. 813-822, 2002.

- HLUBOCKA, Z. *et al.* Circulating intercellular cell adhesion molecule-1, endothelin-1 and von Willebrand factor-markers of endothelial dysfunction in uncomplicated essential hypertension: the effect of treatment with ACE inhibitors. **Journal of human hipertension**, v. 16, n. 8, p.557-562, 2002.
- HONG, S.; MILLS, P. J. Effects of an exercise challenge on mobilization and surface marker expression of monocyte subsets in individuals with normal vs. elevated blood pressure. **Brain, Behaviour and immunity**, v. 22, n. 4, p. 590-599, 2008.
- HUANG, C. J. *et al.* Cardiovascular reactivity, stress, and physical activity. **Frontiers in Physiology**, v. 4, n.1, p. 314, 2013.
- HUNG, H. C. *et al.* Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease. **Journal of National Cancer Institute**, v. 96, n. 21, p. 1577-1584, 2004.
- IGNARRO, L. J. *et al.* Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. **Circulation Research**, v. 61, n. 6, p. 866-879, 1987.
- JOHNSON, B. T. *et al.* Methodological quality of meta-analyses on the blood pressure response to exercise: a review. **Journal of Hypertension**, v.32, n.4, p.706-23, 2014.
- KINLAY, S. *et al.* Endothelial function and coronary artery disease. **Current Opinion Lipidology**, v. 12, n. 4, p. 383-389, 2001.
- LATHAM, L. S.; HENSEN, Z. K. e MINOR, D. S. Chocolate--guilty pleasure or healthy supplement? **Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn.)**, v. 16, n. 2, p. 101–106, 2014.
- LEE, K. W. *et al.* Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.25, p.7292-7295, 2003.
- LELY, A. J. VAN DER *et al.* Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. **Endocrine reviews**, v. 25, n. 3, p. 426–57, 2004.
- LIBBY, P. *et al.* The vascular biology of atherosclerosis and imaging targets. **Journal of nuclear medicine**, v. 51, n. 1, p. 33S-37S, 2010.
- LIBBY, P. Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n.2, p. 456S–460S, 2006.
- LIBBY, P.; DICARLI, M. e WEISSLEDER, R. The vascular biology of atherosclerosis and imaging targets. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 51, n. 1, p. 33S–37S, 2010.
- MELO, S. E. S. *et al.* Hipertensão arterial, aterosclerose e inflamação: o endotélio como órgão-alvo. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 14, n. 4, p. 234-238, 2007.
- MILLS, P. J. *et al.* Immune cell CD62L and CD11a expression in response to a psychological stressor in human hypertension. **Brain, Behaviour and Immunity**, v. 17, n. 4, p. 260-267, 2003.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Doenças crônicas não transmissíveis: mortalidade e fatores de risco no Brasil, 1990 a 2006. **Saúde Brasil 2008: 20 anos de Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil**, v.1, n.1, p. 337-363, 2009.
- MOREIRA, A. *et al.* Does exercise increase the risk of upper respiratory tract infections? **British Medicine Bull**, v.90, n.3. p.111-131, 2009.



- NAPOLI, *et al.* Long term combined beneficial effects of physical training and metabolic treatment on atherosclerosis in hypercholesteromic mice. **Proceedings of the national academy of sciences**, v.101, n.52, p.18262-8802, 2004.
- NEUFINGERL, N. *et al.* Effect of cocoa and theobromine consumption on serum HDL-cholesterol concentrations: a randomized controlled trial. **The American journal of clinical nutrition**, v. 97, n. 6, p. 1201–1209, 2013.
- NOSAKA, K. e NEWTON, M. Repeated eccentric exercise bouts do not exacerbate muscle damage and repair. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 16, n. 1, p. 117–122, 2002.
- PEDERSEN, B. K.; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and immune system: regulation, integration, and adaptation. **Physiological Reviews**, v. 80, n. 3, p. 1056-1073, 2000.
- ROBERGS, R. A. *et al.* Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. **American Journal of Physiology**, v. 287, n. 3, p. R502-516, 2004.
- RONDON, M.; BRUM, P. C. Exercício físico como tratamento não farmacológico da hipertensão arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 10, n. 11, p. 134-139, 2003.
- ROQUE, F. R. *et al.* Exercise training and cardiometabolic diseases: focus on the vascular system. **Current Hypertension**, v.15, n.3, p. 204-214, 2013.
- SCHARHAG, J. *et al.* Does prolonged cycling of moderate intensity affect immune cell function? **British Journal of Sports Medicine**, v.39, n.3, p. 171-177, 2005.
- SERAFINI, M. *et al.* Plasma antioxidants from chocolate. **Nature**, v.424, n.6952, p.1013-1013, 2003.
- SIQUEIRA, A. F. A.; ABDALLA, D. S. P. e FERREIRA, S. R. . LDL: da Síndrome Metabólica à Instabilização da Placa Aterosclerótica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 2, p. 334–346, 2006.
- SONDERGAARD, E. *et al.* Acute changes in lipoprotein subclasses during exercise. **Metabolism: clinical and experimental**, v. 63, n. 1, p. 61–68, 2014.
- SPOSITO, A. C. *et al.* IV Diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, n.1, p. 2–19, 2007.
- STONER, L. *et al.* Inflammatory biomarkers for predicting cardiovascular disease. **Clinical Biochemistry**, v.43, n. 15, p.1353-1372, 2013.
- TAUBERT, D. Chocolate and blood pressure in elderly individuals with isolated Systolic Hypertension, **JAMA**, v.290, n.8, p.1029-1030, 2013
- TAUBERT, D. *et al.* Chocolate and blood pressure in elderly individuals with isolated systolic hypertension. **JAMA**, v. 290, n. 8, p. 1029–1030, 2003.
- TEODORO, B. G. *et al.* A influência da intensidade do exercício físico aeróbio no processo aterosclerótico. **Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 16, n. 5, p. 382-387, 2010.
- THOMAS, J.R.; NELSON, J.K. **Métodos de pesquisa em atividade física**. 3.ed. (Traduzido por Ricardo D. S Petersen). Porto Alegre: Artmed, 2002.
- TIAINEN, S. *et al.* High Density Lipoprotein Level is Negatively Associated With the Increase of Oxidized Low Density Lipoprotein Lipids After a Fatty Meal. **Lipids**, p.1-8, 2014.

WARBURTON, D. E. *et al.* Health benefits of physical activity: the evidence. **Canadian Medical Association journal**, v. 174, n. 6, p. 801-809, 2006.

WILLIAMS, M. H. Dietary supplements and sports performance introduction and vitamins. **Journal of international society of sports nutrition**, v.2, n.1, p. 1–6, 2004.

WOLF-MAIER, K. *et al.* Hypertension prevalence and blood pressure levels in 6 european countries, canada, and the united states. **JAMA**, v. 289, n. 18, p. 2363-2369, 2003.

ZDERIC, T. W. *et al.* Manipulation of dietary carbohydrate and muscle glycogen affects glucose uptake during exercise when fat oxidation is impaired by  $\beta$ -adrenergic blockade. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 287, n. 6, p. E1195–E1201, 2004.

## **ANEXOS**

## ANEXO 1 - Composição e Valor nutricional do Chocolate 85% cacau da Cacau Show®

### COMPOSIÇÃO

massa de cacau, cacau em pó, açúcar, manteiga de cacau, emulsificante lecitina de soja e aromatizante.

### TABELA NUTRICIONAL

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL		
Porção de 25g (3 quadrados)		
Quantidade por porção		%VD(*)
Valor energético	119 kcal = 502 kJ	6%
Carboidratos	5,0 g	2%
Proteínas	3,0 g	4%
Gorduras totais	11 g	19%
Gorduras saturadas	6,7 g	31%
Gorduras <i>trans</i>	0g	**
Fibra alimentar	3,0 g	12%
Sódio	3,6 mg	0%

(\*)% Valores diários de referência com base em uma dieta de 2.000 kcal ou 8.400 kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas.

(\*\*) VD não estabelecido

**ANEXO 2 - Parecer do comitê de ética e pesquisa**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SÃO PAULO - UNIFESP/  
HOSPITAL SÃO PAULO

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Efeitos da suplementação aguda de chocolate, com elevador do teor de cacau, sobre as proteínas de adesão celular VCAM-1 e ICAM-1 após exercício agudo

**Pesquisador:** Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 27858114.1.0000.5505

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de São Paulo

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 623.100

**Data da Relatoria:** 16/04/2014

**Apresentação do Projeto:**

Conforme parecer do CEP. 610.400 de 9/4/2014

**Objetivo da Pesquisa:**

Conforme parecer do CEP. 610.400 de 9/4/2014

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Conforme parecer do CEP. 610.400 de 9/4/2014

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Conforme parecer do CEP. 610.400 de 9/4/2014

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Trata-se de respostas de pendências apontadas no parecer inicial

**Recomendações:**

não se aplica

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

pendências apontadas no parecer inicial:

Os cartazes para divulgação para inclusão de voluntários deverá ser submetido ao CEP ( modelo do

**Endereço:** Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14

**Bairro:** VILA CLEMENTINO

**CEP:** 04.023-061

**UF:** SP

**Município:** SAO PAULO

**Telefone:** (11)5539-7162

**Fax:** (11)5571-1062

**E-mail:** cepunifesp@unifesp.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SÃO PAULO - UNIFESP/  
HOSPITAL SÃO PAULO



Continuação do Parecer: 623.100

texto)juntamente com o projeto;

Esclarecer onde e sob supervisão de quais profissionais os procedimentos estarão sendo realizados;

Note que a amostra conta com indivíduos sedentários

"A amostra será composta por 10 indivíduos do gênero masculino, entre 30 e 40 anos de idade e sedentários".....

Existe a informação de patrocínio FAPESP: APRESENTAR NUMERO DE APROVAÇÃO E ESCLARECER O PATROCÍNIO pois o orçamento fala em apenas R\$ 300,00;

respostas apresentadas de forma adequada.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O CEP informa que a partir desta data de aprovação, é necessário o envio de relatórios parciais (anualmente), e o relatório final, quando do término do estudo.

SAO PAULO, 23 de Abril de 2014

---

**Assinador por:**  
**José Osmar Medina Pestana**  
(Coordenador)

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14  
Bairro: VILA CLEMENTINO CEP: 04.023-061  
UF: SP Município: SAO PAULO  
Telefone: (11)5539-7162 Fax: (11)5571-1062 E-mail: cepunifesp@unifesp.br

## **APÊNDICE**

## **APÊNDICE 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

### **SUPLEMENTAÇÃO AGUDA DE CHOCOLATE RICO EM CACAU: ANÁLISE DOS BIOMARCADORES METABÓLICOS E VENTILATÓRIOS ANTES E APÓS EXERCÍCIO FÍSICO AGUDO**

#### **Desenho do estudo e objetivo(s)**

Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária no estudo, que visa avaliar o efeito de duas sessões de exercício aeróbico em certas proteínas que induzem a doenças cardiovasculares. Sendo que na primeira sessão será utilizado chocolate branco, e na segunda sessão chocolate preto, com entrega dos laudos ao final.

#### **Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros**

Todos os voluntários serão submetidos a: (I) um eletrocardiograma de repouso e esforço; (II) um teste ergoespirométrico na esteira para autorização de participação do estudo, (III) 2 sessões de exercício agudo com e sem suplementação.

#### **Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados**

Os voluntários comparecerão ao laboratório em quatro momentos com intervalo de uma semana entre cada procedimento.

#### **Intervenção 1**

No primeiro dia serão dadas todas as informações relativas ao projeto tais como os objetivos e procedimentos a que os voluntários serão submetidos nas intervenções subsequentes. Ao final das explicações os voluntários tomarão ciência do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e, estando de acordo com o estudo, o assinarão. Após a assinatura, os voluntários realizarão o ecocardiograma e eletrocardiograma de repouso e esforço.

#### **Intervenção 2**

No segundo dia os voluntários serão submetidos a avaliação da capacidade aeróbia que consistirá num teste ergoespirométrico de cargas crescentes até a exaustão, para determinação das seguintes variáveis: consumo máximo ou pico de oxigênio ( $\text{VO}_2$  máx./ $\text{VO}_2$  pico), limiar ventilatório (LV-I), frequência cardíaca máxima (FCMÁX), frequência cardíaca do limiar ventilatório (FCLAV-I) e



frequência cardíaca do limiar ventilatório II (FCLAV-II). Os testes serão realizados, em um laboratório com a temperatura e a pressão controladas juntamente com o médico e os profissionais de educação física.

### **Teste Controle**

Consiste no teste com protocolo de exercício aeróbio seguido diretamente para as análises sanguíneas.

### **Teste Chocolate Preto e Feedback**

Consiste no teste com suplementação de chocolate preto, Lindt® 85% cacau, com mesmo protocolo de exercício aeróbio utilizado com o chocolate branco, seguindo para as análises sanguíneas e entrega dos laudos.

### **Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 3 e 4**

Os riscos para os voluntários são mínimos uma vez que todos os exercícios serão realizados seguindo as normas internacionais e com relação aos desconfortos estes também serão mínimos no que diz respeito ao exercício físico e a coleta de sangue. Após o final do exercício a recuperação será da mesma forma com uma ligeira sensação de cansaço devido à realização do exercício.

### **Benefícios para o participante**

A partir dos resultados encontrados será possível avaliarmos os efeitos da suplementação com flavonoides do chocolate sobre parâmetros cardiovasculares e inflamatórios e possível diminuição de patologias.

### **Garantia de acesso**

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr. Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos que pode ser encontrado no CEPE, Rua Prof. Francisco de Castro, 93 - Vila Clementino. Telefone(s) (11) 5572-0177. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Botucatu, 572 – 1º andar – cj 14, 5571-1062, FAX: 5539-7162 – E-mail: cepunifesp@epm.br

### **Desistência da participação no estudo**

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

### **Direito de confidencialidade**

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros voluntários, não sendo divulgada a identificação de nenhum voluntário.

### **Atualização sobre os resultados parciais**

Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores

### **Despesas e compensações**

Não haverá em qualquer hipótese qualquer tipo de despesas ou compensações para os voluntários como retribuição pela participação no estudo.

### **Dano pessoal**

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

### **Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa**

Todo o material coletado e todos os resultados coletados nesse estudo serão utilizados somente nessa pesquisa.

### **Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo: Suplementação aguda de chocolate rico em cacau: análise dos biomarcadores metabólicos e ventilatórios antes e após exercício físico agudo**

Eu discuti com o Dr. Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

-----  
Assinatura do paciente/representante legal

-

Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

-----  
Assinatura da testemunha para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semianalfabetos  
ou portadores de deficiência auditiva ou visual -      Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste  
paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

-----  
Assinatura do responsável pelo estudo      -      Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_